

油橄榄种质资源研究进展

贾瑞芬, 肖千文, 李进峰

(四川农业大学林学院园艺学院, 雅安 625014)

摘要: 油橄榄高度杂合, 种质资源丰富, 其分类学、遗传学关系、系统发生学关系等很模糊。这给品种的培育和基因资源的管理, 带来了诸多不便。现就国内外发表的关于由于油橄榄种质资源的研究做一综述。望能为以后油橄榄的种质资源的研究提供參考。

关键词: 油橄榄; 种质资源; 分子标记; 遗传学

中图分类号: S667.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2006)05-0064-03

油橄榄属于木犀科, 是地中海最古老的栽培果树之一, 也是一种速生、高产、长寿、果实含油率高(15%~35%)的木本油料树种。公元前4世纪已有栽培, 有6000年的驯化历史。分布于世界五大洲的30多个国家。虽有如此长的历史、如此广泛的分布范围, 但是有关油橄榄的一些重要的问题却到目前都没有答案。比如关于油橄榄分类问题, 关于栽培油橄榄和野生油橄榄的遗传学关系问题等等。2600个油橄榄栽培有记载, 可生物多样性描述大多根据形态学和农艺学形状, 种质资源变异性很少涉猎。

Bartolini et al.^[1]列出了保存于24个国家的1200个油橄榄栽培种, 而这些种却有3000个命名。诸如此类, 品种同物异名、异物同名的使用, 品种命名的混乱, 对许多栽培品种的不确定, 以及对一些油橄榄栽培史和传播途径认识的有限, 严重影响了油橄榄基因资源的保存, 油橄榄的培育管理。在油橄榄的培育管理上, 为了准确鉴定父本、母本, 辨认新品种, 要求准确快速的品种鉴定。另外可靠的品种鉴定, 对油橄榄工业、苗圃的发展都是非常重要的。同其他果树一样, 苗木价格高, 而一些选苗的错误在栽培很多年后才能发现, 这些都迫切要求对油橄榄的种质资源有准确的鉴定。现就近年来国内外发表的、关于油橄榄种质资源的文章做一综述。

1 油橄榄的起源与分布

油橄榄的起源非常久远, Zohary, D. 和 Spiegle-Roy 认为油橄榄最早出现在公元前4世纪, 发源地是叙利亚—以色列—巴勒斯坦。在死海北面发现了铜石及同时代保存完好的油橄榄化石。而我国的徐纬英教授认为, 它的起源地小亚细亚。虽略有不同, 但都属于地中海地区。所以一般都说, 油橄榄原

产地是地中海区域, 和现在油橄榄集中分布区域一致。联合国粮农组织出版《油橄榄种质资源—品种及世界野生资源的收集》一书中公布了“油橄榄的考古发现及历史起源地年表”。从那个表中可以了解到世界油橄榄的进程及长远历史。

2 油橄榄生物学特性

常绿乔木, 高6~8 m, 叶革质, 不完全对称叶。正常叶寿命2~3年, 4~6月上旬开花, 花白色, 大多为两性花, 自花不育, 主要是雄性不孕, 由细胞质遗传决定的。圆锥花序或复总状花序。芽具有早熟性, 在一年内可以多次萌发和抽生新梢: 第一次在4~5月, 形成春梢; 第二次在6~9月, 形成夏梢; 在温暖地带9月以后尚能形成一次秋梢。花芽形成时间在冬季。分化的起始时间各不相同。花期较长, 多数品种蕾期16~28 d, 蕾裂期到花谢平均1.5 d。油橄榄核果从开始形成到成熟, 约需4~6个月, 果实应在完全成熟时采收, 含油率最高, 色味也最好。能很好地适应干燥的环境, 可忍受长时间的干旱、高温、高辐射。

喜夏季炎热, 冬季温暖湿润的环境。对土壤要求不很严格, 在沙土、壤土、黏土, 但最适宜的含有石砾的中性或微碱性土壤。根性很发达, 耐干旱瘠薄力比较强。

3 油橄榄品种鉴定及其分类

3.1 利用形态学鉴定

传统的植物分类和品种鉴定依赖于植物形态。吴万波、朱益川、韩华柏^[2]等测试了十个不同的油橄榄品种的单叶重、叶长、叶宽、叶厚、叶形指数(叶长/叶宽)。认为可依据叶形指数将不同品种划分为不同类型。有些不能划分的, 可参照单叶重、叶长、叶宽、叶厚, 以及油橄榄的物候期、枝芽特性、果实等表型形状, 建立油橄榄表型鉴别体系。李、腰希申^[3]用SEM505扫描电镜对野生与栽培的油橄榄叶片的叶表面进行了观察与比较, 结果表明, 两者在微观结构上存在一定的差异。Claudio Cantini 等用形态学特征分析83个托斯卡尼的原始油橄榄品种。用Principal component analysis(PCA)比较了果实、核、叶子和生长习惯特征。结果显示: 许多表型特征可以鉴定油橄榄品种, 在以后的研究中, 可减少样本数量。大样本的表型特征研究是油橄榄分类、鉴定的快速方法。

3.2 利用同功酶鉴定



第一作者简介: 贾瑞芬, 女, 1982年6月生, 2000年~2004年就读于山西农业大学林学院并获学士学位, 现为四川农业大学林学院园艺学院在读硕士研究生, 师从肖千文高级工程师, 研究方向为经济林栽培。

收稿日期: 2006-03-28

相对于形态学鉴定,同功酶鉴定具有不受环境影响、多态性出率高、程序也简单、花费低等优点。Pontikis, Trujillo 等用花粉浸出液,用五个酶体系:ADH、EST、GPI、LAP、ME 分析了来自不同原产地的 155 个油橄榄品种。结果表明:这五个酶体系对品种鉴定是非常有用的,鉴定出了 85%,其余的结合形态学特征也可鉴定出来。但是不足之处是采样必须是在开花时间的成熟树木。Ouazzani 等成功地用叶(同种)异型酶研究了栽培种和野生种的基因变异。但是叶子的酶体系的多态性检出率明显少于花粉的,另外蛋白质的提取也很费事。

3.3 利用分子标记鉴定

要描述、鉴定油橄榄种质资源,需说明其遗传多样性、传播途径和驯化的历程,这样才能有助于育种进程的加快。另外为了在苗圃中得到所需的繁殖体,更好的控制油、鲜果的品质。最近 5 年,在绘制基因图谱和描述基因多样性方面,前人做了大量的工作。意大利的 Rotondi (2003)^[12],法国的 Khadari (2003)^[13]等,西班牙的 Belaj (2001)等,以色列的 Wiesman (1998)^[14]等,阿尔巴尼亚的 Belaj (2003a)^[5],希腊的 Nikoloudakis (2003)^[8],其他地中海国家: Angiolillo (1999)^[15], Belaj (2002)^[16], Besnard (2001a)^[17]。分子标记 (RAPD、AFLP、RFLP、SSR) 和形态鉴定,或四种分子标记的组合的运用已鉴定了近 250 个品种。

3.3.1 RAPD 已证明对于油橄榄的分类与鉴定, RAPD 是一个很有用的工具。国外在这方面做了大量工作^[4~8]。A. Belaj 等分析了 51 个主要来自于西班牙的品种。用 46 个引物产生了 190 条可扩增片段,仅用 OPA-01、OPK-08、OPX-01、OPX-03 这四个引物就可将 51 个品种鉴定出来。结果表明:这些品种可以分为三个聚类:(1)来自西班牙东面和东北的品种;(2)土耳其的、叙利亚的和北非的共和国的品种;(3)西班牙普通油橄榄品种。V. Bronzini de Caraffa¹ J. Maury² C. Gambotti³ 研究的材料来自两个地中海岛国:科西嘉岛和萨丁尼亚岛,研究这些品种的核、线粒体 DNA。西地中海大多野生油橄榄带有 MOM、MCK mitotype; 而东地中海野生的大多带有 MEI mitotype。RAPD 和 mitotype 的结合显示:西部真正的 Oleaster 和 feral 两种。真正的 Oleaster 有典型的西部 mitotype 和 PAPD 带。而 feral 是源于一个栽培种或多个品种和 oleaster 的杂交。N. Nikoloudakis^[8]的试材是 33 个希腊油橄榄品种,3 个克利特岛野生种(feral)、5 个刚从国外引进的品种。所筛选的 19 个引物扩增出 64 个可扩增的多态带。显示了希腊油橄榄品种基因的多样性。另外运用 UPG-MA,根据果实大小或商业用途(果用或油用),将这些品种聚合成两大类,但是发现相关性很小。

3.3.2 RFLP RFLP 是基于 DNA-DNA 杂交的 DNA 标记,它是发现最早、应用最广、最具代表性的 DNA 标记。但 RFLP 在油橄榄上应用相对较少,且多是结合其它三种标记一起使用^[13,18]。

3.3.3 AFLP 生化/同功酶标记的多态性的低检出率, RAPD 受制于它的重复性。我们都知道,在 RAPD 和 RFLP 的技术基础上,荷兰学者 zabeau 和 vos (1992) 发明了被称为是

最有效的分子标记——AFLP 技术 (Amplified fragment length Polymorphism), 即扩增片段长度多态性。AFLP 得到了大量的应用^[9~11]。Marianna Hagidimitriou^[9]等运用 12 个 RAPD、4 个 AFLP 标记结合 10 种形态特征分析了 26 个希腊品种和 5 个国际品种。共产生了 576 个 AFLP 个标记、113 个 RAPD 标记。但依据三种方法得到的树状图的聚类相似性却很小: AFLP 和 RAPD 的相关性系数为 $r=0.39$, RAPD 和形态特征的相关性系数为 $r=0.02$; AFLP 和形态特征的相关性系数为 $r=0.11$ 。结果表明:油橄榄的分类应依据果实的大小,而不应依其地理起源。C. A. Owen¹ E. C. Bitas² S. E. Hajjar¹^[10] 等的实验材料包括来自土耳其、希腊、中东和西地中海的 65 个品种。5 个引物组合得到 119 个多态性标记,反映了油橄榄基因种质资源遗传的多样性。2 对引物就足够区分这 65 个品种。其中的每一个引物对单独就可区分 64 个基因型。

3.3.4 SSR C. MONTEMURRO^[11]等运用 AFLP 和 SSR 标记,研究了分属于 60 个油橄榄品种的 111 个已注册的油橄榄,和 1 个野生的 (oleaster) 注册油橄榄。两种标记结合可鉴定出所有的基因类型。SSR 只可鉴定品种间的个体,而不能区分同一品种的不同个体。相反 AFLP 可区分所有供试个体。这些差异的原因可能是两者的原理不同: SSR 借助的是琼脂糖凝胶电泳; 而 AFLP 用的是聚丙烯酰胺凝胶,可反映单个核酸的多态性。

从上面可以看出:分子标记在油橄榄品种的鉴定中得到了大量的应用。但是以上研究大多存在这样一个问题:实验样本容量较小,没能找出油橄榄品种鉴定最为理想的技术方法,这是一个很重要的问题。为此, A. Belaj 研究了西班牙一个油橄榄资源库的 103 个品种。首先用 51 个样品,从 46 个引物中筛选,选出最优的引物组合,来建立 PCR-RAPD 体系。筛选出来的引物分别是: OPK-16、OPA-19、OPX-09、OPF-06、OPZ-11。最后建议为了所得信息的可靠性高,应将几种分子标记结合起来使用。

3.4 其他方法的应用

P. J. Terzopoulos 等用两个 ISSR 标记,一个是 UBC-818,另一个是 UBC-849,研究的材料是 31 个生长在希腊的油橄榄栽培品系。两个标记都显示了高度的多态性。相比之下, UBC-818 产生的 51 条带,且全为多态性带,能区分全部供试材料。而 UBC-849 产生 33 条带,有 3 条单态性带,只能区分 27 个材料。实验证明:对于鉴定油橄榄品种, ISSR 是个有用的工具。应用在油橄榄的其它标记还有: multiple markers, Artificial Neural Network analysis、橄榄油的 NMR analysis、SCAR。

4 油橄榄的遗传学基础研究

根据油橄榄栽培品种的复杂性和后代分离所表现的杂合性,认为栽培油橄榄可能是通过渐渗进化,即通过某一亲本多次重复回交之后形成的。油橄榄是一个高度杂合的种,染色体数 $2n=46$,还有一些品种 $2n=48$ 认为是四倍体,油橄榄染色体的结构、总 DNA 含量遵从高、中、低重复序列都不清楚。现在已知无系品种 Leccino 和 Frantoio 的 DNA 含量,分别是

每个单倍体核含有 2.26pg、2.20pgDNA。

油橄榄和其相关种类,芽分裂组织原子核的异染色质数量和结构的研究结果显示^[4]:核苷酸序列比较,这些序列在相同的排序,显示出结构的多样性,这些不同的元素有不少于74%的相同。在杂交种中,OeTaq80—related DNA序列主要定位在染色体末端的异染色质上。

5 我国对油橄榄引种栽培考察及应用

我国先后引种 170 多个品种(品系),分别在四川省西昌、开江,湖北省武昌,云南省昆明建立了品种园。在此基础上,还进行了品种选育和品种间杂交,又选育出玉蝉 44 号、九峰米扎、九峰卡林等多个品种(系)。另外在我国找到了油橄榄的生态适生区。

6 展望

从上面我们可以看到,油橄榄的周期长、品种多、品种间关系复杂。实验的样本很难涉足全部的基因型,地中海国家油橄榄已有几千年的栽培史,仍有许多重要的问题不能给出满意的答案。橄榄油因其的诸多优点,油橄榄工业在地中海国家及其他一些国家发展很快,市场仍未达饱和。为了以后的油橄榄工业的更好发展,对油橄榄的培育、管理等提出了更高的要求。另外,作为一个高度杂合的种质资源,品种丰富的物种,它的基因保存、管理也非常重要。在以后的研究中,我们应尽可能将多种标记结合起来,样本也应尽可能囊括所有的基因型。

参考文献:

- [1] Bartolini G., G. Prevost, C. Messeri, and G. Cagnani. Olive Germplasm: cultivars and world—wide collections. Food and agriculture organization, Rome, 1998.
- [2] 吴万波,朱益川,韩华柏,等.油橄榄不同品种叶片表型形状浅析[J].经济林研究,2005,23(1):60—61.
- [3] 李、腰希申.油橄榄野生种与栽培种叶表面微观结构的观察[J].林业科学研究,1998,11(5):556—559.
- [4] M. B. BITONTI, R. COAAZ, A. CHIAPETTA, A. CON—TENTO, S. MINELLI, M. CECCARELLI, M. T. GELATI, F. MAG—GINI, L. BALDONI & P. G. CIONINI. Amount and organization of the heterochromatin in *Olea europaea* and related species. Heredity, 1999, 82: 188—195.
- [5] Belaj A., Z. Satovic, H. Ismaili, D. Panajoti, L. Rallo, and Trujillo. RAPD genetic diversity of Albanian olive germplasm and its relationship with other Mediterranean countries. Euphytica, 2003, 130, 387—395.
- [6] Belaj A., Z. Satovic, G. Cipriani, L. Baldoni, R. Testolin, L. Ral—b., and I. trujillo. Comparative study of the discriminating capacity of RAPD, AFLP and SSR markers and their effectiveness in establishing genetic relationships in olive. Theor. Appl. Genet, 2003, 107: 736—744.
- [7] V. Bronzini de Canaffa, J. Maury, C. Gambotti, C. Breton, A. Berville, J. Giannettini. Mitochondrial DNA variation and RAPD mark—oleasters, olive and feral olive from Western and Eastern Mediterranean.

Theor. Appl. Genet, 2002, 104: 1209—1216.

- [8] N. Nikooulidakis, G. Banilas, F. Gazis, and P. Hatzopoulos, J. Met—zidakis. Discrimination and Genetic Diversity among Cultivated Olives of Greece Using RAPD Marker. J. Amer. Soc. Hort. Sci, 2003, 128(5): 741—746.
- [9] Marianna Hagidimitriou, Andreas Katsiotis, George Menexes, Con—stantinos Pontikis, Michael Loukas. Genetic Diversity of Major Greek O—live Cultivars Using Molecular (AFLPs and RAPDs) Markers and Mor—phological Traits. J. Amer. Soc. Hort. Sci, 2005, 130(2): 211—217.
- [10] C. A. Owen, E. C. Bitas, E. Hajjar, U. Aksoy, S. Hepaksoy, R. Chamoun, S. N. Talhook, G. Banilas, P. Hatzopoulos, et al. AFLP reveals structural details of genetic diversity within cultivated olive germplasm from the Eastern Mediterranean. Theor. Appl. Genet, 2005, 110: 1169—1176.
- [11] C. MONTEMURRO, R. SIMEONE, A. PASQUALONE, E. FER—RARA, A. BLANCO. Genetic relationships and cultivar identification among 112 olive accessions using AFLP and SSR markers. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 2005, 80(1): 105—110.
- [12] Rotondi, A. M. Magli, C. Ricciolini, and L. Baldoni. Morphologi—cal and molecular analyses for the characterization of a group of Italian o—live cultivars. Euphytica, 2003, 132: 129—137.
- [13] Khadari, B., C. Breton, N. Moutier, J. P. Roger, G. Bensnard, A. Berville, and F. Dosha. The use of molecular markers for germplasm management in a French olive collection. Theor. Appl. Genet, 2003, 106: 521—529.
- [14] Wiesman, Z., N. Avidan, S. Lavee, and B. Quebedeaux. Molecu—lar characterization of common olive varieties in Israel and the West Bank using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. J. Amer. Soc. Hort. Sci, 1998, 123: 837—841.
- [15] Angiolillo, A., M. Mencuccini, and L. Baldoni. Olive genetic di—versity assessed using amplified fragment length polymorphisms. Theor. Appl. Genet, 1999, 98: 411—421.
- [16] Belaj A., Z. Satovic, L. Rallo and I. Trujillo. Genetic diversity and relationships in olive (*olea europaea* L.) germplasm collections as determined by randomly amplified polymorphic DNA. Theor. Appl. Genet, 2002, 105: 638—644.
- [17] Besnard, G., C. Breton, P. Baradat, B. Khadari, and A. Berville. Cultivar identification in olive based on RAPD markers. J. Amer. Soc. Hort. Sci, 2001, 126: 668—675.
- [18] R. la Rosa, A. Angiolillo, C. Guerrero, M. Pellegrini, L. Rallo, G. Besnard, A. Berville, A. Martin, L. Baldoni. A first linkage map of o—live (*olea europaea* L.) cultivars using RAPD, AFLP, RFLP, and SSR markers. Theor. Appl. Genet, 2003, 106: 1273—1282.
- [19] Rosa R de la, Angiolillo A, Guerrero C, Pellegrini M, Rallo L, Besnard G, Berville A, Martin A, Baldoni L. A first linkage map of olive (*olea europaea* L.) Cultivars using RAPD, AFLP, RFLP and SSR mark—ers. Theor. Appl. Genet, 2003, 106(7): 1273—1282.
- [20] A. Belaj, Z. Satovic, L. Rallo, and I. Trujillo. Optimal Use of RAPD Markers for Identifying Varieties in Olive (*Olea europaea* L.) Germplasm Collections. J. Amer. Soc. Hort. Sci, 2004, 129 (2): 266.